1) Numéro de publication:

0 145 590 A1

_	
\sim	

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(1) Numéro de dépôt: 84402475.2

6) Int. Cl.4: C 12 C 7/04

Ø Date de dépôt: 03.12.84

Priorité: 06.12.83 FR 8319453

- Demandeur: BERTIN & CIE, Zone industrielle Boîte postale 3, F-78373 Plaisir (FR)
- Date de publication de la demande: 19.06.85
 Builetin 85/25
- Inventeur: Gascoin-Hache, Danielle, 3 Allée de l'Epée, F-78180 Voisins le Bretonneux (FR) Inventeur: Hache, Jean Georges Edouard Joseph, 3 Allée de l'Epée, F-78180 Voisins le Bretonneux (FR)
- Etats contractants désignés: AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE
- Mandataire: Orès, Bernard et al, Cabinet ORES 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR)
- Perfectionnements apportés aux procédés de production de bière.
- Procédé de production de bière, faisant intervenir de la celtulase.

Selon ce procédé, on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cellulase propre à transformer la cellulose cristalline présente dans le maît, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir le bière obtenue, et on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration dans des conditions connues en elles-mêmes.

La cellulase mise en oeuvre est une cellulase d'origine fongique présentant une activité enzymatique C_1 prépondérante et una faible activité β -glucosidase.

BEST AVAILABLE COPY

0 145

La présente invention est relative à des perfectionnements apportés aux procédés de production de bière.

Comme on le sait, c'est au cours des opérations de brassage (qu'elles aient lieu par infusion, par décoction ou par des méthodes mixtes) que les enzymes qui se sont dévelopées dans le malt solubilisent une certaine quantité des matières premières. C'est au cours de ces opérations que les amylases transforment l'amidon en oses et en oligoholosides fermentescibles. C'est au cours de ces opérations également que les protéines sont dégradées par les protéases en polypeptides, peptides et acides aminés.

Ces processus enzymatiques conduisent à la maïsche qui est séparée par exemple par filtration en moût et en drèches.

15 Ces dernières quoique servant à l'alimentation du bétail sont mal valorisées et représentent en poids près du quart du malt introduit pour la préparation des moûts.

C'est la raison pour laquelle il a été proposé dans l'Art antérieur de réaliser une transformation plus complète 20 du malt en moût par l'addition d'enzymes au cours des opérations de brassage.

On a ainsi proposé :

- l'addition de protéases pour provoquer une dégradation plus poussée des protéines contenues dans le malt ;
- 25 l'addition de l'alpha-amylase pour liquéfier plus rapidement et plus complètement l'amidon du malt;
 - l'addition de la béta-glucanase pour dégrader les polyholosides dans la paroi cellulaire de l'albumen du malt ;
- l'addition de la glucoamylase, laquelle en hydrolysant les liaisons α -1,4 glucane des polysaccharides, conduit à une augmentation générale du taux final de fermentation du moût.

Toutes ces additions d'enzymes ont pour but de diminuer le poids des drèches et d'utiliser aussi complètement 35 que possible les matières premières mises en jeu. Encore faut-il que cette diminution du poids des drèches ne soit pas obtenue aux dépens de la stabilité de la bière, ni aux dépens du caractère et de la qualité de la bière obtenue. Ce qui n'était (et de loin) pas le cas pour toutes ces tentatives.

Il est à noter qu'aucune des tentatives décrites ci-dessus ne préconise l'addition des enzymes préalablement à l'opération de brassage du malt.

5

35

Il a également été proposé d'introduire une cellulase d'origine fongique, provenant de Trichoderma reesei, 10 dans la cuve de brassage du malt et de procéder au brassage du malt par chauffage par paliers successivement à 53°C, puis à 63-67°C et enfin à 76°C, l'addition d'une telle cellulase ayant pour effet de dégrader les B-glucanes et les pentosanes présents dans le malt et dans les éventuelles adjonctions de 15 houblon ou de farine de froment au malt, ainsi que dans les parois cellulaires du malt ; un tel traitement a pour résultat d'améliorer considérablement la filtrabilité des moûts obtenus, de réduire leur viscosité et d'augmenter leur rendement [cf. Proc. Inst. of Brew. Aust. + New Zeal. Section, 20 1980, pages 127-1347, pour une addition de cellulase comprise entre 0,03 et 0,05 % du poids du malt ou de la charge de malt + houblon ou farine de froment. L'Article cité plus haut mentionne également que les quatre fractions enzymatiques cellulolytiques séparées par chromatographie par échange d'ions, 25 de cellulase provenant de Trichoderma reesei, à savoir deux fractions C_1I et C_1II d'exo-glucanases et deux fractions $C_{\mathbf{x}}I$ et $C_{\mathbf{x}}$ II d'endo-glucanases, et la fraction \mathfrak{B} -glucosidase \mathfrak{BII} , améliorent également, mais dans une proportion moindre, la filtrabilité de moûts résultant du brassage de versements de .30 mélanges de malt et de farine de froment ou de malt et de houblon lorsqu'elles sont ajoutées aux versements à des doses aussi faibles que 0,002 à 0,12 % en poids, respectivement, pour la fraction C₁I et que 0,0009 à 0,012 % en poids, respectivement, pour la fraction $C_{\mathbf{x}}I$, par exemple.

Le traitement décrit ci-dessus prévoît bien l'addi-

tion de la cellulase avant l'opération de brassage du malt; toutefois, le brassage du malt intervient immédiatement après cette addition, dans les conditions bien connues dans l'Art antérieur, par paliers de températures successifs à 52°C, 63°C, 76°C, et si l'addition de cellulase a une incidence sur la filtrabilité et le rendement, il ne semble pas qu'elle ait pour effet de réduire le poids des drèches.

La présente invention s'est en conséquence donné pour but de pourvoir à un procédé de production de bière qui 10 répond mieux aux nécessités de la pratique que les procédés visant au même but antérieurement connus, notamment en ce qu'il permet une augmentation considérable du rendement de brassage et une réduction très appréciable du poids des drèches, sans avoir d'effets indésirables sur les caractéristiques de la bière telles que sa stabilité, son caractère, sa qualité ou ses propriétés organoleptiques.

La présente invention a pour objet un procédé de production de bière, caractérisé en ce que l'on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cellulase propre à transformer la cellulose cristalline présente dans le malt, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir la bière obtenue, et en ce que l'on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration dans des conditions connues en elles-mêmes.

La Demanderesse a découvert, en effet, que la cellulose cristalline présente dans le malt bloque les enzymes
propres du malt développées au cours des opérations de maltage de l'orge ; il lui est donc apparu que pour améliorer
l'activité enzymatique propre au malt au cours du brassage,
il faut éliminer la cellulose cristalline en la transformant
en cellulose amorphe, qui n'exerce pas d'effet de blocage sur
les enzymes propres du malt.

Il est connu, comme on l'a indiqué plus haut, que 35 la cellulase est un complexe enzymatique à plusieurs compo-

santes dont les trois plus importantes sont :

- la composante C₁, dont la structure est encore mal identifiée, mais qui comprend une exo-cellobiohydrolase et dont la principale propriété est de transformer la cellulose cristalline en cellulose amorphe,
- la composante $C_{\mathbf{x}}$ constituée par des endo-gluconases et dont la propriété est de transformer la cellulose amorphe en produits solubles tels que la cellobiose et le glucose,
- la cellobiase, ou β-glucosidase, qui hydrolyse la cellobio se et les petites chaînes cello-oligosaccharides en gluco se, mais n'a aucune action sur la cellulose.

La Demanderesse a donc fondé la présente invention sur le fait que seule une cellulase présentant une activité enzymatique C₁ prépondérante serait apte à atteindre le but 15 qu'elle s'était fixé. En outre, la cellulase à activité enzymatique C₁ prépondérante utilisable dans le cadre de la présente invention doit présenter une proportion de composante cellobiase aussi faible que possible, car dans le cas d'une cellulase présentant une forte proportion de cellobiase, le 20 malt comprendrait une quantité importante de sucres réducteurs provenant de la cellulose et non des sucres réducteurs provenant de l'action des amylases développées lors des opérations de maltage, c'est-à-dire que le produit obtenu, comprenant des sucres différents de ceux que doit contenir la 25 bière, serait un produit autre que de la bière. La Demanderesse a pu établir qu'une cellulase fongique obtenue à partir de Trichoderma viride ou de Trichoderma reesei répond aux conditions requises conformément à la présente invention.

Selon un mode de réalisation préféré du procédé ob-30 jet de la présente invention, la cellulase mise en oeuvre est de la cellulase obtenue à partir de Trichoderma viride ou de Trichoderma reesei.

Selon un autre mode de réalisation préféré du procédé objet de la présente invention, le traitement enzymati-35 que du malt par la cellulase, au cours de la phase d'empâtage, est effectué à une température comprise entre 45 et 50°C.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux du procédé objet de la présente invention, la quantité de cellulase mise en oeuvre est comprise entre 0,05 et 2 % 5 par rapport au poids du malt.

Selon un autre mode de réalisation avantageux du procédé objet de la présente invention, le traitement enzymatique du malt par la cellulase au cours de la phase d'empâtage et l'opération de brassage subséquente, sont réalisés à un ph compris entre 4,5 et 6,5.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre.

La présente invention vise plus particulièrement le nouveau procédé de production de bière conforme aux dispositions qui précèdent, ainsi que les moyens pour sa mise en oeuvre et les procédés d'ensemble dans lesquels est inclus ledit procédé.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du complé-20 ment de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en oeuvre du procédé conforme à la présente invention.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples de mise en oeuvre sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1

35

On mélange 1 kg de malt broyé avec 4 kg d'eau. Le pH est ajusté entre 4,5 et 6,5 et on agite en chauffant pro- 30 gressivement jusqu'à 40°C.

On ajoute alors 200 mg de cellulase préparée à partir de Trichoderma viride QM 9414, puis on porte la température du mélange à 45-50°C, et on maintient cette température pendant une heure.

On poursuit alors le chauffage de manière à ce que

0,37

la montée de la température se fasse à une vitesse de 1°C par minute. Quand la température atteint 52°C, on maintient ce palier pendant 15 minutes. On opère de la même façon à 63°C (palier de 15 minutes) et à 75°C (palier de 10 minutes). Ce dernier palier (10 minutes à 75°C) a surtout pour objet d'inhiber les enzymes et notamment l'alpha-amylase, avant la filtration de la maïsche.

Caractéristiques du produit obtenu

Le Tableau I ci-après présente les résultats d'un 10 brassage de référence et d'un brassage conforme à la présente invention.

Avec traitement Analyses sur le moût 15 Référence enzymatique . Densité PLATO (°) 13,09 15,37 . Protéines totales (g/100 m1)144 182 20 . Trouble (unités EBC) 180 130 . Maltotriose (g/100 m1)1,99 1,67 . Maltose (g/100 ml) 6,65 7,80 . Glucose (g/100 ml) 1,22 2,95

TABLEAU I

Par ailleurs, la quantité de drèches est réduite de 32 %.

0,09

30 222 g : pour le brassage de référence,

Fructose (g/100 ml)

151 g : pour le brassage conforme à la présente invention.

Il résulte des caractéristiques présentées dans le Tableau I que le traitement enzymatique préalable conforme à la présente invention aboutit à des résultats extrêmement intéressants et notamment :

- le moût obtenu est plus concentré en sucres fermentescibles :
- la quantité des résidus solides est nettement réduite ;
- la concentration en sucres du moût permet de passer à un 5 brassage haute densité, sans être obligé de passer par une évaporation en chaudière ;
 - le trouble, exprimé en unités EBC, est réduit.

Les analyses effectuées sur le moût ont de plus démontré que le profil en acides aminés du moût n'est pas per-10 turbé par l'addition de la cellulase.

EXEMPLE 2

On ajoute à 1307 g de mouture humide de malt, 2,5 g de cellulase obtenue à partir de Trichoderma viride QM 9414.

La température de la masse est portée progressivement

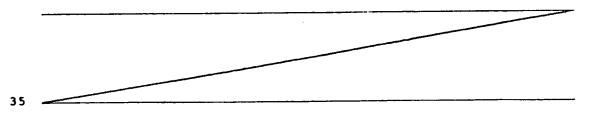
(1°C/minute) à 48°C et on maintient à cette température pendant 60 minutes au cours desquelles on laisse agir l'enzyme sur le versement.

On procède alors à l'opération de brassage proprement dite comme décrit à l'Exemple 1, par chauffage par pa-20 liers à 52°C, puis 63°C, puis 75°C.

Parallèlement, on effectue un essai témoin dans lequel on soumet 1575 g d'un versement de la même mouture humide de malt à une première phase de chauffage à 48°C pendant une heure, pendant la phase d'empâtage, après quoi on procède à l'opération de brassage dans les mêmes conditions que celles décrites dans l'Exemple 1.

L'essai avec la cellulase et l'essai témoin ont utilisé, pour la phase de fermentation, la même levure.

Le Tableau II ci-après rassemble les résultats des 30 principales phases du cycle de brassage.



- 8
TABLEAU II

RESULTATS COMPOSES DES ESSAIS AVEC CELLULASE

ET SANS CELLULASE

5	ANALYSES	TEMOIN	ESSAI
	BRASSAGE		
	Densité Plato (°)	12,03	12,03
	Alcool (% en poids)	3,8	3,78
10	Maltotriose (g/100 ml)	0,11	0,16
	Maltose (g/100 ml)	0,28	0,22
	Matières amères g. extrait	2,9	2,5
	Versement malt g.	1575	1307
	Durée filtration h.	3	3
	Rendement brassage %	75,4	78 , 9
15	Poids humide drèches g	1370	999
	Réduction poids drèches humides %	-	
	Hauteur drèches cm	17,5	26,6
	Addition acide H ₃ PO ₄ 1N ml	1,9	13,5
İ	pH fin filtration	5,81	1,4
20	Evaporation horaire %	1 1	5,70
	FERMENTATION	5,94	6,93
	Densité limite °P	2.50	
l	Atténuation limite °P	2,69	2,46
İ	Densité finale fin fermentation °P	76,8	79,09
25	Densité finale fin garde °P	3,36	3,11
- 1	Atténuation fin fermentation %	2,95	3,03
	Atténuation fin garde %	92,49	92,90
- 1		97,08	93,77
30	Taux de multiplication des levures Indice de démarrage	2,1	2,3
		5,8	5,6
	Unités de temps d'atténuation	73,0	73,0
	FILTRATION 2		
	Débit de filtration 1/h/m ²	78	92

On constate que pour un versement inférieur de 17 % en malt par rapport au témoin, le rendement de brassage est de plus de 3 % supérieur.

La quantité de drèches récoltées est réduite de 5 26,6 % par rapport au témoin (drèches humides).

Les autres résultats de brassage ne présentent pas de différences importantes, à l'exception du taux de multiplication des levures qui est un peu plus élevé par rapport au témoin et qui dénote un léger changement dans la cinétique 10 de fermentation dans le sens d'une amélioration de cette dernière.

En particulier, la concentration en polyphénols ne présente pas de différence significative par rapport au témoin, dans la bière obtenue en mettant en oeuvre le procédé conforme à la présente invention, ce qui signifie que son goût n'est pas modifié.

Par ailleurs, la bière obtenue par le procédé conforme à la présente invention, ne présente pas, à la filtration, un comportement différent de celui de la bière obtenue
20 par le témoin, ce qui est parfaitement cohérent puisque la
présente invention ne cherche pas à améliorer la filtrabilité
de la maïsche, comme les procédés connus dans l'Art antérieur
qui ajoutent la cellulase au cours de la phase de brassage.

Le Tableau III ci-après rassemble les principales 25 mesures physico-chimiques de la bière obtenue par le procédé témoin et de la bière obtenue par le procédé conforme à la présente invention.

Le Tableau III fait apparaître que les bières issues de brassins traités par la cellulase conformément à la 30 présente invention, ne diffèrent pas de façon significative des bières obtenues par le procédé témoin.

			
	enidəeteliga mgq	0,18	ijξ ' 0
	mqq eqidoèteoiga		- 4
	Catéchine	2,9	3,4
	B 3 Ppm	2,19	2,27 3,44
	Maltotriose g/100 ml	0,28 0,11 2,19 2,98	,16
	Maltose g/100 ml	,28	0,22 0,16
	d/100 ml		0
	Exactose Glacose	<u> </u>	
	euosaib SO	0,01	ı
	I/V JesT	> 12	> 12
	Brillance 20°C	1,0	0,5
	Brillance 0°C	3,5	2,7
III	EBC Confent	6,5	7,7
TABLEAU III	ЕВС ушек <i></i> слше	20,7	22,6
TABI	Kromonase Wonase	3,80 4,70 18'30	17.2
	emulov ne loosiA £	1,70	,67
	Alcool en poids	, 80 4	3,78 4,67
	Extrait primitif (Plato)	12,03 3	12,03 3
	Extrait réel (Plato)	4,66	4,71
	Extrait apparent (Plato)	2,94	3,00 4,71
		Témoin	Essai

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite; elle en embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

- 1°) Procédé de production de bière, caractérisé en ce que l'on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cellulase propre à transformer la cellu-5 lose cristalline présente dans le malt, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir la bière obtenue, et en ce que l'on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration dans des conditions connues en elles-mêmes.
 - 2°) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la cellulase mise en oeuvre est une cellulase présentant une activité enzymatique C₁ prépondérante et une faible activité ß-glucosidase.
- 3°) Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que ladite cellulase est une cellulase d'origine fongique.
- 4°) Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ladite cellulase est de la cellulase obtenue à par-20 tir de Trichoderma viride ou de Trichoderma reesei.
 - 5°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le traitement enzymatique du malt par la cellulase, au cours de la phase d'empâtage, est effectué à une température comprise entre 45 et 50°C.
- 6°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la quantité de cellulase mise en oeuvre est comprise entre 0,05 et 2 % par rapport au poids du malt.
- 7°) Procédé selon l'une quelconque des revendica-30 tions 1 à 6, caractérisé en ce que le traitement enzymatique du malt par la cellulase au cours de la phase d'empâtage et l'opération de brassage subséquente, sont réalisés à un pH compris entre 4,5 et 6,5.



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 84 40 2475

Catégorie	DOCUMENTS CONSIDE Citation du document avec des parties		oin, Re	vendication concernée		SSEMENT MANDE (In	
х	CHEMICAL ABSTRAC' 23, 9 juin 1980, 196308y, Columbu V.A. MARINCHENKO of fungal cellul on the enzymic a & PRIKL. BIOKHIM 1979, 15(6), 897 * Résumé *	IS, vol. 92, page 512, n s, Ohio, US; et al.: "Ef ase preparat ctivity of n . MIKROBIOL.	fect ions alt"	1,3,7	C 1	12 C	7/04
A	CHEMICAL ABSTRAC 11, 15 septembre no. 112267u, Col S. HOME: "Stimul with microbial e OLUT 1980, (1), * Résumé *	1980, page umbus, Ohio, ation of malenzymes" & MA	558, US; ting	1			
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 94,		, no.	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)		
	17, 27 avril 198 137755k, Columbu V.A. MARINCHENKO "Fermentation of starch-containir prepared using of IZV. VYSSH. UCHE PISHCH. TEKHNOL. 142-143 * Résumé *	s, Ohio, US et al.: wort from graw mater cellulases" EBN. ZAVED.,	a ial		С	12 C	
х	DE-A-2 451 046 SOHN) * Revenidca exemples 1-3 *		INGER 4,5,7;	1,6,7			
L	e présent rapport de recherche a été é						
	Lieu de la recherche LA HAYE	Date d'achèvement 22-02-	te la recherche 1985	COUC	KE Å	. O. M.	
Y:p	CATEGORIE DES DOCUMEN particulièrement pertinent à lui set particulièrement pertinent en com particulièrement de la même catégorière-plan technologique sivulgation non-écrite document intercalaire	ul binaison avec un li orie l	: théorie ou pr : document de date de dépô): cité dans la c : cité pour d'a	e brevet anté et ou après c demande utres raison	erieur, m ette date s	ais publi e	e a ia

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:
☐ BLACK BORDERS
☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
☐ FADED TEXT OR DRAWING
BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
OTHER:

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.